

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①1 N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 827 480

②1 N° d'enregistrement national : 01 09518

⑤1 Int Cl⁷ : A 23 C 9/12, C 12 P 21/06, A 21 D 13/00

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 17.07.01.

③0 Priorité :

④3 Date de mise à la disposition du public de la
demande : 24.01.03 Bulletin 03/04.

⑤6 Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥0 Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : COMPAGNIE LAITIÈRE EURO-
PEENNE Société en commandite par actions — FR.

⑦2 Inventeur(s) : SOUPPE JEROME et PRODHOMME
JOEL.

⑦3 Titulaire(s) :

⑦4 Mandataire(s) : CABINET ORES.

⑤4 LACTOSERUM MODIFIE, PROCEDE DE PREPARATION, UTILISATION ET PRODUIT DE PANIFICATION
COMPRENANT LE LACTOSERUM MODIFIE.

⑤7 La présente invention se rapporte à un procédé de
préparation d'un lactosérum modifié comprenant les étapes
a) de délactosage, b) d'hydrolyse, c) de pré-traitement des
protéines, d) d'hydrolyse des protéines pré-traitées et e)
d'inactivation des enzymes.

La présente invention se rapporte également au lactosé-
rum susceptible d'être obtenu par le procédé de préparation
et caractérisé en ce qu'il comprend une quantité de lactose
comprise entre 10 et 50% en poids de la quantité pondérale
initialement présente et une quantité de protéines totales re-
présentant au maximum 80% en poids de la quantité pon-
dérale de protéines initialement présentes.

La présente invention se rapporte également à l'utilisa-
tion dudit lactosérum modifié en tant qu'améliorant de pani-
fication et les produits le contenant.

BEST AVAILABLE COPY

FR 2 827 480 - A1



LACTOSERUM MODIFIE, PROCEDE DE PREPARATION, UTILISATION ET PRODUIT DE PANIFICATION COMPRENANT LE LACTOSERUM MODIFIE.

La présente invention concerne un lactosérum modifié, son procédé de préparation, son application dans le domaine des produits de panification et les produits de panification comprenant ledit lactosérum modifié.

Le rassissement du pain est essentiellement dû à la rétrogradation de l'amidon, qui résulte de la formation de liaisons hydrogène entre les groupes hydroxyle des résidus glucose de l'amidon. Ainsi, les produits de panification industriels, tels que les pains de mie, les pains briochés, les génoises, le pain de campagne ou les viennoiseries se durcissent rapidement.

Différentes solutions ont été proposées pour s'affranchir de ce problème :

- la rotation accélérée des produits dans les linéaires, ce qui exige de travailler à flux tendu, avec des contraintes de logistique assez lourdes.

- l'utilisation d'additifs tels que des émulsifiants (monoglycérides distillés, esters d'acide tartrique acétylés (DATA), etc.) ou des rétenteurs d'eau (gomme de guar, xanthanes, etc.). Ces produits doivent être mentionnés dans la liste des ingrédients, ce qui est généralement mal perçu par les consommateurs.

- l'utilisation d'auxiliaires technologiques de nature enzymatique. Le produit le plus efficace à ce jour est une amylase maltogénique et thermostable, produite par NOVO NORDISK et dont le nom commercial est « NOVAMYL[®] ». Cette enzyme présente un certain nombre d'inconvénients :

- . elle ne permet de retarder le rassissement des produits de panification industrielle que de 8 à 10 jours selon les produits
- . son prix élevé en limite l'utilisation
- . cette enzyme n'est pas active dans la viennoiserie et
- . elle est issue d'un microorganisme génétiquement modifié.

Ce problème de rassissement n'est donc pas, à l'heure actuelle, résolu de manière satisfaisante.

C'est pourquoi la Demanderesse s'est donnée pour but de proposer une solution efficace à ce problème du rassissement des produits de panification industriels.

La Demanderesse a ainsi trouvé, de manière surprenante, une solution à ce problème du rassissement des produits de panification industriels par l'incorporation auxdits produits d'un lactosérum modifié.

Le lactosérum est le liquide résiduel obtenu après l'extraction des protéines et de la matière grasse du lait ou du petit-lait. On distingue en général deux catégories de lactosérum, selon que son acidité est inférieure ou supérieure à 1,8 g d'acide lactique/l : le lactosérum doux, issu de la fabrication de fromage à pâte pressée cuite ou non cuite (emmental, saint-paulin etc.) et le lactosérum acide, issu des autres fromages obtenus par coagulation mixte ou lactique (pâtes molles, pâtes fraîches). La composition moyenne du lactosérum doux est à titre indicatif, pour 61 g de matières sèches par kg de lactosérum, de 42 à 48 g de lactose, 8 g de protéines, 2 g de graisses, 5 à 7 g de minéraux, 1 à 5 g d'acide lactique et le reste en minéraux et vitamines.

On entend par "lactosérum initial" le lactosérum tel que défini ci-dessus. On préférera les lactosérums doux, dans la mesure où ils sont plus faciles à sécher.

La présente invention a donc pour objet un procédé de préparation de lactosérum modifié, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

a) délactosage d'un lactosérum initial par évaporation du lactosérum, de manière à cristalliser le lactose sous forme alfamonohydratée, facilement séparable ; de manière préférée, on obtient ainsi un lactosérum concentré comprenant de 55 à 70 % de matière sèche,

b) hydrolyse du lactosérum obtenu à l'étape a) à l'aide de lactases, de préférence à un pH compris entre 3 et 7 et à une température \leq à 40°C, jusqu'à l'obtention d'un taux de lactose compris entre 10 et 50 % en poids de la quantité de lactose initialement présente dans le lactosérum initial non modifié ; de manière avantageuse, au cours de cette étape le lactose est, en majeure partie, transformé en glucose et en galactose ; de manière préférée on obtient à cette étape b) un taux de lactose de 10 à 35%, de préférence de 35% en poids de la quantité de lactose initialement présente dans le lactosérum initial non modifié.

c) pré-traitement des protéines contenues dans le lactosérum obtenu à l'étape b) par addition audit lactosérum d'un piège à calcium, à chaud et à pH sensiblement neutre,

d) hydrolyse à chaud des protéines pré-traitées à l'étape c) en présence d'au moins une endopeptidase, d'au moins une exopeptidase et d'au moins une molécule capable

de couper les ponts disulfures jusqu'à l'obtention d'un taux de protéines totales représentant au maximum 80% en poids du poids initial de protéines présentes dans le lactosérum initial non modifié ; on obtient un taux d'hydrolyse compris, de préférence, entre 20 et 25 %, et

- e) inactivation de toutes les enzymes présentes dans le lactosérum obtenu
5 à l'étape d).

De manière préférée :

- le délactosage selon l'étape a), est effectué conformément aux techniques bien connues de l'homme du métier et comprend de préférence une concentration par évaporation, suivie d'un séchage.

- 10 - l'hydrolyse selon l'étape b) est effectuée en présence d'une lactase acide qui présente une activité optimale à un pH compris entre 3 et 5, de préférence à un pH de 4 ou d'une lactase neutre, qui présente une activité optimale à un pH compris entre 5 et 7, de préférence à un pH de 6,3, de préférence à 37°C ; également de manière préférée, la quantité de lactase est de 0,1 à 0,5 g pour 100 g d'extrait sec (ou matière sèche). L'hydrolyse du
15 lactose est avantageusement poursuivie jusqu'à l'obtention d'un taux d'hydrolyse du lactose d'au moins 50% et de préférence de 65 à 90 % : on obtient ainsi un taux de lactose de 10 à 35%, de préférence de 35% de la quantité de lactose initialement présente dans le lactosérum non modifié. Le taux d'hydrolyse est mesuré par dosage des sucres libres, et notamment du glucose par glucométrie.

- 20 - le pré-traitement des protéines selon l'étape c) est, de préférence, effectué à une température comprise entre 40° et 50°C et à un pH compris entre 6,5 et 7,5, de préférence à pH 7. A cette étape, le piège à calcium, de préférence présent en une quantité de 1 % d'extrait sec, est sélectionné dans le groupe constitué par le citrate disodique, le lactate de sodium et certains polyphosphates.

- 25 - l'hydrolyse des protéines selon l'étape d) est avantageusement effectuée à une température comprise entre 35° et 60°C, de préférence 45°C, en présence :

- . d'une endopeptidase sélectionnée dans le groupe constitué par une
neutrase, notamment la neutrase commercialisée par NOVO, la pancréatine, la delvolase ou
protéase alcaline issue de *Bacillus licheniformis*, la papaïne ou protéase V100 et une
30 protéase neutre du genre *Aspergillus* (*niger*, *oryzae*, *sojae*, *melleus* ou *wentii*).

. d'une exopeptidase fongique, de préférence du genre *Aspergillus* (*niger*,
oryzae, *sojae*, *melleus*, *wentii*) et

d'une molécule capable de couper les ponts disulfures, sélectionnée dans le groupe constitué par le métabisulfite de sodium, la cystéine ou un extrait de levure riche en glutathion. Le métabisulfite de sodium détruit la structure tertiaire des protéines ; en outre, il permet de maintenir un potentiel rédox dans le milieu, nécessaire par exemple à l'activité de la papaine. Le taux d'hydrolyse des protéines est mesuré par dosage des groupements NH_2 ou COOH libérés.

- l'inactivation de toutes les enzymes à l'étape e) est mise en œuvre dans la mesure où pour que les enzymes soient considérées comme des auxiliaires technologiques, conformément à la réglementation, elles doivent être inactives.

Selon un mode de mise en œuvre avantageux dudit procédé, la température et la durée de l'étape e) est fonction du cocktail enzymatique utilisé ; les conditions sont notamment de 90°C pendant 30 minutes.

Le procédé de préparation du lactosérum modifié selon l'invention peut comprendre une ou des étapes complémentaires permettant de concentrer le lactosérum modifié obtenu à l'étape e).

Selon un autre mode de mise en œuvre avantageux du procédé de préparation du lactosérum, il comprend une étape supplémentaire f) de concentration du lactosérum modifié obtenu à l'étape e) pour obtenir un concentré à 50-60% d'extrait sec, de préférence à 55%.

La présente invention a également pour objet un lactosérum modifié, susceptible d'être obtenu par le procédé décrit ci-dessus et caractérisé en ce qu'il comprend une quantité de lactose comprise entre 10 et 50% en poids de la quantité pondérale initialement présente et une quantité de protéines représentant au maximum 80% en poids la quantité pondérale de protéines initialement présentes.

Le lactosérum modifié selon l'invention peut se présenter sous forme liquide, sous forme de concentré ou de poudre sèche.

On préférera, pour des raisons de coût de transport le lactosérum sous forme de concentré à 50 à 70% d'extrait sec, de préférence à 55% d'extrait sec.

Ce lactosérum modifié selon l'invention présente les avantages suivants :

- il permet de ralentir, de manière significative, le rassissement des produits industriels de panification le contenant par rapport aux produits de panification ne le contenant pas.

- le lactosérum modifié selon l'invention, ajouté aux produits de panification précités permet de réduire jusqu'à 10 fois la dose de NOVAMYL[®] dans la farine, voire d'éviter l'ajout de NOVAMYL[®] dans la farine ; dans ce dernier cas, pour un résultat au moins aussi bon en terme de ralentissement du rassissement des produits de panification ; cela constitue une intéressante réduction du coût pour l'industriel de la panification, puisque ces produits ne contiennent pas une quantité importante d'ingrédients coûteux ;

- il permet en outre une bonne valorisation du lactosérum dé lactosé pour le fabricant de lactose.

Selon un mode de réalisation avantageux dudit lactosérum modifié, il comprend de préférence une quantité de lactose représentant 35% en poids de la quantité initialement présente dans le lactosérum initial non modifié.

On verra dans les exemples qui suivent que ces quantités de lactose et de protéines totales restantes dans le lactosérum modifié de l'invention sont des caractéristiques qui permettent d'apporter un ralentissement du rassissement des produits de panification contenant ledit lactosérum.

La présente invention a également pour objet l'utilisation du lactosérum modifié de l'invention en tant qu'améliorant de panification. On utilise effectivement le lactosérum modifié de l'invention pour fabriquer notamment des pains industriels qui présentent un rassissement ralenti en comparaison de pains industriels qui ne comprennent pas le lactosérum modifié selon l'invention.

On ajoute, de préférence, des quantités de 0,1 à 0,6%, de préférence de 0,2 à 0,6% de lactosérum modifié par rapport à la quantité de farine (p/p), de préférence de 0,4%.

La présente invention a en outre pour objet un produit de panification comprenant du lactosérum modifié selon l'invention. Ledit produit de panification est avantageusement du pain de mie, une génoise, un pain avec poolish ou un pain de type hamburger.

Selon un mode de réalisation avantageux dudit produit de panification, il comprend en outre au moins l'un des additifs suivants : farine de lupin, amylase ou tout produit issu du fractionnement de la matière grasse laitière, notamment cholestérol ou rétentat d'ultrafiltration de babeurre.

- des pains de type hamburger et des pains de mie avec poolish comprendront outre du lactosérum modifié selon l'invention, de la farine de lupin et une amylase

5 - des pains de mie avec poolish comprendront avantageusement en outre du cholestérol ou un rétentat de babeurre caractérisé par un extrait sec d'environ 17 %, une teneur en matière protéique d'environ 75 % par rapport à l'extrait sec, et une teneur en matières grasses d'environ 10 % par rapport à l'extrait sec.

L'invention sera mieux comprise à l'aide du complément de description qui suit qui sont des exemples de préparation du lactosérum modifié conforme à l'invention
10 et des études comparatives du rassissement de pains différents, ainsi qu'à la planche des dessins annexée dans lesquels :

- La figure 1 illustre le procédé général selon l'invention.

- La figure 2 illustre un mode de mise en œuvre préféré du procédé selon l'invention.

15 **EXEMPLE 1 : Procédé de préparation de lactosérum modifié**

a) Délactosage du lactosérum :

Le lactosérum est solubilisé en chauffant à 60-70°C une solution de lactosérum, puis concentré sous vide à 60% d'extrait sec, et refroidi doucement jusqu'à 4°C (en 48-72 h) pour obtenir un produit cristallisé qui permet de séparer le lactose cristallisé du
20 lactosérum délactosé.

b) Hydrolyse du lactosérum obtenu à l'étape a) :

On met en solution 20 Kg de poudre de lactosérum délactosé obtenu à l'étape a) et contenant 26% de matière azotée dans 46 litres d'eau à 60°C. La solution est stérilisée par un chauffage de 30 minutes à 90°C puis refroidie à 37°C et neutralisée à pH
25 6,4 par ajout de soude à 30%. On ajoute 40 g de lactase (MAXILACT® LX 5000 commercialisée par DSM) à la solution pour laisser la réaction s'effectuer pendant 3h.

c) pré-traitement des protéines :

La température du milieu est alors portée à 45°C et 200 g de citrate trisodique sont ajoutés. Le pH est enfin ajusté à 7 avec de la soude à 30%.

30 d) Hydrolyse des protéines :

On ajoute 40 g de métabisulfite de sodium, 40 g de papaïne (PROTEASE® V100 commercialisée par DSM), 40 g de protéase alcaline de *Bacillus*

licheniformis (DELVOLASE® commercialisée par DSM) et 20 g de protéase fongique (Protéase M "Amano" commercialisée par UNIPLEX) au milieu réactionnel pour effectuer une hydrolyse pendant 2 h à 45°C.

e) Inactivation des enzymes:

- 5 En fin de réaction, la température est portée à 90°C pendant 30 minutes.

f) Concentration du lactosérum modifié

Le milieu est refroidi à 4°C avant d'être concentré par évaporation sous vide jusqu'à un extrait sec de 55%.

EXEMPLE 2 : Pains de mie

- 10 Le produit obtenu à l'exemple 1 est utilisé dans une recette de pain de mie en comparaison du NOVAMYL® et d'un témoin sans auxiliaire technologique :

	TEMOIN	Essai avec Novamyl® seul	Essai Novamyl® et lactosérum modifié
Farine (g)	500	500	500
Eau (g)	250	250	250
Beurre (g)	100	100	100
Levure (g)	25	25	25
Sucre (g)	20	20	20
Sel (g)	6	6	6
Novamyl® (mg)	0	20	2
Lactosérum modifié concentré (g d'extrait sec)	0	0	4

La recette inclut également un œuf pour 500 g de farine.

- 15 Afin d'éviter le développement de moisissures, 2,5 g de propionate de calcium sont ajoutés pour 500 g de farine.

Chaque pain est fabriqué à partir de 400 g de pâte mise en moule pour 40 minutes de pousse à 35°C suivie d'une cuisson de 25 minutes à 230°C dans un four à sol. Après cuisson, les pains sont mis à refroidir quelques heures à température ambiante avant

20 d'être emballés sous plastique.

La dégustation des produits en aveugle par une assemblée de 10 dégustateurs après 8 et 15 jours de conservation sous plastique à température ordinaire a

montré que le témoin était jugé très rassis alors que le pain de mie selon l'invention avait conservé son moelleux encore mieux que le pain de mie ne contenant que du Novamyl®.

EXEMPLE 3 : Gênoises

Le lactosérum modifié conforme à l'invention dont la fabrication est décrite dans l'exemple 1 est incorporé lors de la préparation d'une génoise : 8 œufs sont mélangés à 250 g de sucre dans un bol à 30°C. Le mélange est fouetté pendant 10 minutes à vitesse 3 puis pendant 10 minutes à vitesse 2 jusqu'à obtention d'un ruban. 250 g de farine sont alors ajoutés délicatement et l'ensemble est mis en moule et enfourné à une température de 190°C aussitôt dans un four à sol pour 30 minutes de cuisson.

Différentes génoises ont été réalisées se différenciant par l'ajout des ingrédients suivants à la dose de 20 g par kg de farine :

	Ingrédients
TEMOIN	Aucun
Essai 1	Lactose
Essai 2	Lactosérum non modifié
Essai 3	Lactosérum délactosé
Essai 4	Lactosérum modifié (exemple 1) conformément à l'invention

Après 13 jours de conservation, les produits étaient identiques quant à leur goût mais se différenciaient par leur aspect moelleux dans l'ordre décroissant suivant :

Essai 4 > Essai 3 = Essai 2 = Essai 1 > Témoin

Après 20 jours de conservation, le produit issu de l'essai 4 restait toujours le plus moelleux.

EXEMPLE 4 : Pains de type Hamburger

Des pains de type Hamburger ont été fabriqués selon la recette suivante :

Farine de blé : 2000 g

Eau : 1160 g

Levure : 100 g

Sucre : 60 g

Beurre : 60 g

Sel : 40 g

Farine de soja : 10 g

L'ensemble est pétri pendant 20 minutes à vitesse maximale dans un batteur HOBART avec queue de cochon. La pâte est divisée en pâtons de 110 g et mise en moule à 25°C pour 1 heure d'apprêt (période de repos de la pâte qui précède la cuisson ; pendant cette période a lieu la fermentation panaière). Les pâtons sont enfin cuits à 240°C pendant 12 minutes.

Les essais suivants réalisés se différencient par des incorporations d'ingrédients susceptibles de ralentir le rassissement du produit :

10

mg d'extrait sec/ Kg de farine	TEMOIN	Essai 1	Essai 2
NOVAMYL®	0	40	4
Lactosérum modifié de l'exemple 1	0	0	4000 ¹

Au 11^{ème} jour de conservation, les pains hamburgers ont été examinés en aveugle par un jury de 6 personnes ayant à attribuer une note entre 1 (rassis) et 7 (très moelleux) aux différents produits. Le total des notes obtenu fut :

15

Témoin : 11

Essai 1 : 29

Essai 2 : 33

Il apparaît donc avantageux de substituer la majeure partie du Novamyl® que l'on peut incorporer dans des produits de panification industriels.

20 EXEMPLE 5 : Pains de mie avec poolish

Des pains de mie avec poolish ont été réalisés selon la recette suivante :

Poolish (farine hydratée comprenant de la levure)

Poolish:

Farine de gruau : 750 g

25

Eau : 600 g

Levure : 3,7 g

Laissée fermenter 16 h à 20°C.

Préparation du pain de mie

Poolish : 1353,7 g

Farine de gruau : 1500 g

5 Eau : 818 g

Saindoux : 225 g

Levure : 86 g

Sucre : 67 g

Sel : 45 g

10 Farine de soja : 33,8 g

Propionate de calcium : 3,4 g

Les pâtes obtenues sont mises en bac pour 1 h de pointage : période de repos de la pâte qui suit le pétrissage et permet une première étape de fermentation de la levure et de structuration de la pâte ; des pâtons de 400 g sont pesés et légèrement boulés pour une détente de 15 minutes. Ils sont ensuite mis en moule pour 1,5 h d'apprêt à 25°C et pour obtenir 85% d'humidité relative. La cuisson est enfin réalisée en moule ouvert à 230°C pendant 25 minutes. Le démoulage a lieu juste après la cuisson pour un ressuage de 3h.

Les essais suivants se différencient des précédents par l'incorporation dans la partie hors poolish d'ingrédients susceptibles de ralentir le rassissement du pain.

20

mg d'extrait sec/kg de farine	TEMOIN	Essai 1	Essai 2
NOVAMYL®	0	40	4
Lactosérum modifié de l'exemple 1	0	0	4000

Le sérum modifié est celui décrit à l'exemple 1.

Après 18 jours de conservation, le témoin était totalement rassis alors que les pains de l'essai 2 et de l'essai 1 avaient conservé tout leur moelleux.

EXEMPLE 6 : Pains de type Hamburger

Des pains de type Hamburger ont été fabriqués comme décrit à l'exemple 4.

- 5 Les essais suivants ont été réalisés qui se différencient par l'incorporation d'ingrédients susceptibles de ralentir le rassissement du produit :

mg d'extrait sec/ Kg de farine	TEMOIN	Essai 1	Essai 2
NOVAMYL®	0	40	0
Lactosérum modifié de l'exemple 1	0	0	4000
Farine de lupin	0	0	3000
BREWERS AMYLIQ®	0	0	0,05

- 10 BREWERS AMYLIQ® est une amylase bactérienne issue de *Bacillus amyloliquefaciens* et commercialisée par DSM France.

Au 17^{ème} jour de conservation, les pains hamburgers ont été examinés en aveugle par un jury de 6 personnes ayant à attribuer une note entre 1 (rassis) et 7 (très moelleux) aux différents produits. Le total des notes obtenues fut :

Témoin : 11

- 15 Essai 1 : 30

Essai 2 : 22

Il apparaît donc possible de ralentir le rassissement de pain type Hamburger par une formulation exempte de NOVAMYL® mais contenant par contre du lactosérum modifié tel que décrit dans la présente invention.

20 **EXEMPLE 7 : Pains de mie avec poolish**

Des pains de mie avec poolish ont été fabriqués comme décrit à l'exemple 5. Les essais suivants ont été réalisés qui se différencient par l'incorporation d'ingrédients susceptibles de ralentir le rassissement du produit :

mg d'extrait sec/ Kg de farine	TEMOIN	Essai 1	Essai 2
NOVAMYL®	0	40	0
Lactosérum modifié de l'exemple 1	0	0	4000
Farine de lupin	0	0	3000
BREWERS AMYLIQ®	0	0	0,05

Au 14^{ème} jour de conservation, les pains ont été examinés en aveugle par un jury de 6 personnes ayant à attribuer une note entre 1 (rassis) et 7 (très moelleux) aux différents produits. Le total des notes obtenues fut :

Témoin : 12

Essai 1 : 35

Essai 2 : 26

Il apparaît donc possible de ralentir le rassissement de ce type de pain par une formulation exempte de NOVAMYL® mais comprenant par contre du lactosérum modifié conformément à l'invention.

EXEMPLE 8 : Pains de mie avec poolish

Des pains de mie avec poolish ont été fabriqués comme décrit à l'exemple 5. Les essais suivants ont été réalisés qui se différencient par l'incorporation d'ingrédients susceptibles de ralentir le rassissement du produit .

mg d'extrait sec/ Kg de farine	TEMOIN	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 4	Essai 5
NOVAMYL®	0	40	0	0	0	0
Lactosérum modifié selon l'exemple 1	0	0	4000	4000	4000	4000
Farine de lupin	0	0	3000	3000	3000	3000
BREWERS AMYLIQ®	0	0	0,05	0,05	0,05	0,05
Cholestérol	0	0	0	1000	5000	20000

Le cholestérol est extrait du lait et commercialisé par la société CORMAN (Belgique).

Au 7^{ème} jour de conservation, les pains ont été examinés en aveugle par un jury de 6 personnes ayant à attribuer une note entre 1 (rassis) et 7 (très moelleux) aux différents produits. Le total des notes obtenues fut :

Témoin : 20

Essai 1 : 22

Essai 2 : 17

Essai 3 : 23

10 Essai 4 : 27

Essai 5 : 8

Il apparaît donc possible de ralentir le rassissement de ce type de pain par une formulation exempte de NOVAMYL®, optimisée en cholestérol (entre 1 et 5 g par kg de farine) mais comprenant par contre du lactosérum modifié conformément à l'invention.

15 EXEMPLE 9 : Pains de mie avec poolish

Des pains de mie avec poolish ont été fabriqués comme décrit à l'exemple 5. Les essais suivants ont été réalisés qui se différencient par l'incorporation d'ingrédients susceptibles de ralentir le rassissement du produit :

mg d'extrait sec/ Kg de farine	TEMOIN	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 4	Essai 5
NOVAMYL®	0	40	0	0	0	0
Sérum modifié de l'exemple 1	0	0	5000	5000	5000	5000
METARIN CP®	0	0	40	0	40	0
BREWERS AMYLQ®	0	0	0,2	0	0	0,2
Rétentat UF/DF de babeurre	0	0	0	4000	0%	4000

5

Le rétentat UF/DF de babeurre est obtenu à partir de babeurre doux pasteurisé et ultrafiltré à 54°C sur une installation d'ultrafiltration ORELIS® équipée de membranes de seuil de coupure 10 kD en effectuant un facteur de concentration volumique de 5,7, suivi d'une diafiltration pour atteindre un facteur de concentration volumique final de 7,2. Le rétentat obtenu est caractérisé par un extrait sec de 17,4%, une teneur en matière protéique de 75% sur extrait sec, une teneur en matière grasse de 9% sur extrait sec.

10

Au 17^{ème} jour de conservation, les pains ont été examinés quant au nombre de tranches moelleuses, au numéro de la tranche à partir de laquelle le moelleux est perceptible, et le classement des tranches centrales par intensité de moelleux. Il en est résulté le classement suivant :

Essai 3 > Essai 2 > Essai 1 > Témoin > Essai 5 > Essai 4

Il apparaît donc possible de ralentir le rassissement de ce type de pain par une formulation exempte de NOVAMYL®, mais comprenant par contre du lactosérum modifié conformément à l'invention et supplémenté en émulsifiants d'origines diverses.

REVENDICATIONS

1°) Procédé de préparation d'un lactosérum modifié, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

5 a) délactosage d'un lactosérum initial par évaporation du lactosérum, de manière à cristalliser le lactose et à obtenir un lactosérum concentré comprenant de 55 à 70 % de matière sèche,

b) hydrolyse du lactosérum obtenu à l'étape a) à l'aide de lactases, de préférence à un pH compris entre 3 et 7 et à une température \leq à 40°C, jusqu'à l'obtention d'un taux de lactose compris entre 10 et 50 % en poids de la quantité de lactose initialement
10 présente dans le lactosérum initial non modifié,

c) pré-traitement des protéines contenues dans le lactosérum obtenu à l'étape b) par addition audit lactosérum d'un piège à calcium, à chaud et à pH sensiblement neutre,

d) hydrolyse à chaud des protéines pré-traitées à l'étape c) en présence d'au
15 moins une endopeptidase, d'au moins une exopeptidase et d'au moins une molécule capable de couper les ponts disulfures jusqu'à l'obtention d'un taux de protéines totales représentant au maximum 80% en poids du poids initial de protéines présentes dans le lactosérum initial non modifié, et

e) inactivation de toutes les enzymes présentes dans le lactosérum obtenu
20 à l'étape d).

2°) Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'hydrolyse selon l'étape b) est effectuée, de préférence à 37°C, en présence d'une lactase acide qui présente une activité optimale à un pH compris entre 3 et 5, de préférence à un pH de 4 ou d'une lactase neutre, qui présente une activité optimale à un pH compris entre 5 et 7, de
25 préférence à un pH de 6,3.

3°) Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que la quantité de lactase est de 0,1 à 0,5 g pour 100 g de matière sèche.

4°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le pré-traitement des protéines selon l'étape c) est, de préférence, effectué à une
30 température comprise entre 40° et 50°C et à un pH compris entre 6,5 et 7,5, de préférence à pH 7.

5°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que le piège à calcium selon l'étape c), présent de préférence en une quantité de 1 % d'extrait sec, est sélectionné dans le groupe constitué par le citrate disodique, le lactate de sodium et certains polyphosphates.

5 6°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que l'hydrolyse des protéines selon l'étape d) est avantageusement effectuée à une température comprise entre 35° et 60°C, de préférence 45°C, en présence :

. d'une endopeptidase sélectionnée dans le groupe constitué par une
neutrase, la pancréatine, la delvolase ou protéase alcaline issue de *Bacillus licheniformis*, la
10 papaine ou protéase V100 et une protéase neutre fongique du genre *Aspergillus (niger, oryzae, sojae, melleus, wentii)*.

. d'une exopeptidase du genre *Aspergillus (niger, oryzae, sojae, melleus ou wentii)*.

. d'une molécule capable de couper les ponts disulfures, sélectionnée dans
15 le groupe constitué par le métabisulfite de sodium, la cystéine ou un extrait de levure riche en glutathion.

7°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que la température et la durée de l'étape e) sont avantageusement de 90°C pendant 30 minutes.

20 8°) Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé en ce qu'il comprend une étape supplémentaire f) de concentration du lactosérum modifié obtenu à l'étape e) pour obtenir un concentré à 50-60% d'extrait sec, de préférence à 55%.

9°) Lactosérum modifié susceptible d'être obtenu à l'aide d'un procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 8, caractérisé en ce qu'il comprend une
25 quantité de lactose comprise entre 10 et 50 % en poids de la quantité pondérale initialement présente et une quantité de protéines totales représentant au maximum 80% en poids de la quantité pondérale de protéines initialement présentes.

10°) Lactosérum modifié selon la revendication 9, caractérisé en ce qu'il se présente sous forme liquide, sous forme de concentré ou de poudre sèche.

30 11°) Lactosérum modifié selon la revendication 9 ou la revendication 10, caractérisé en ce qu'il se présente sous forme de concentré, à 50-70% d'extrait sec.

12°) Lactosérum modifié selon l'une quelconque des revendications 9 à 11, caractérisé en ce qu'il comprend une quantité de lactose de 35% en poids du lactose initial présent dans le lactosérum initial non modifié.

5 13°) Utilisation du lactosérum modifié selon l'une quelconque des revendications 9 à 12 en tant qu'améliorant de panification.

14°) Produit de panification industriel comprenant du lactosérum modifié selon l'une quelconque des revendications 9 à 12 en une quantité de 0,1 à 0,6% en poids par rapport à la quantité de farine.

10 15°) Produit de panification selon la revendication 14, caractérisé en ce qu'il comprend en outre au moins l'un des additifs suivants : farine de lupin, amylase ou tout produit issu du fractionnement de la matière grasse laitière, notamment cholestérol ou rétentat d'ultrafiltration de babeurre.

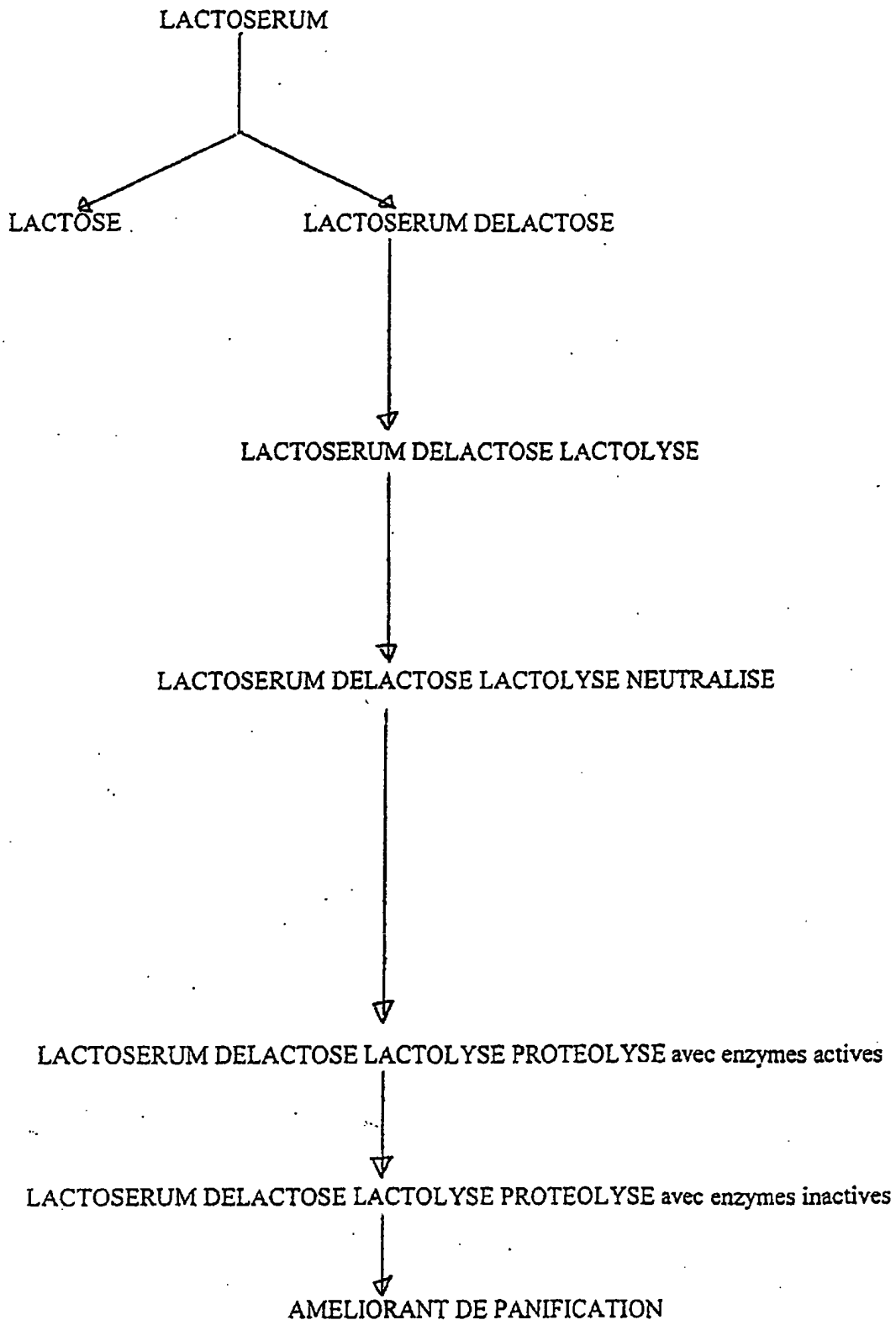
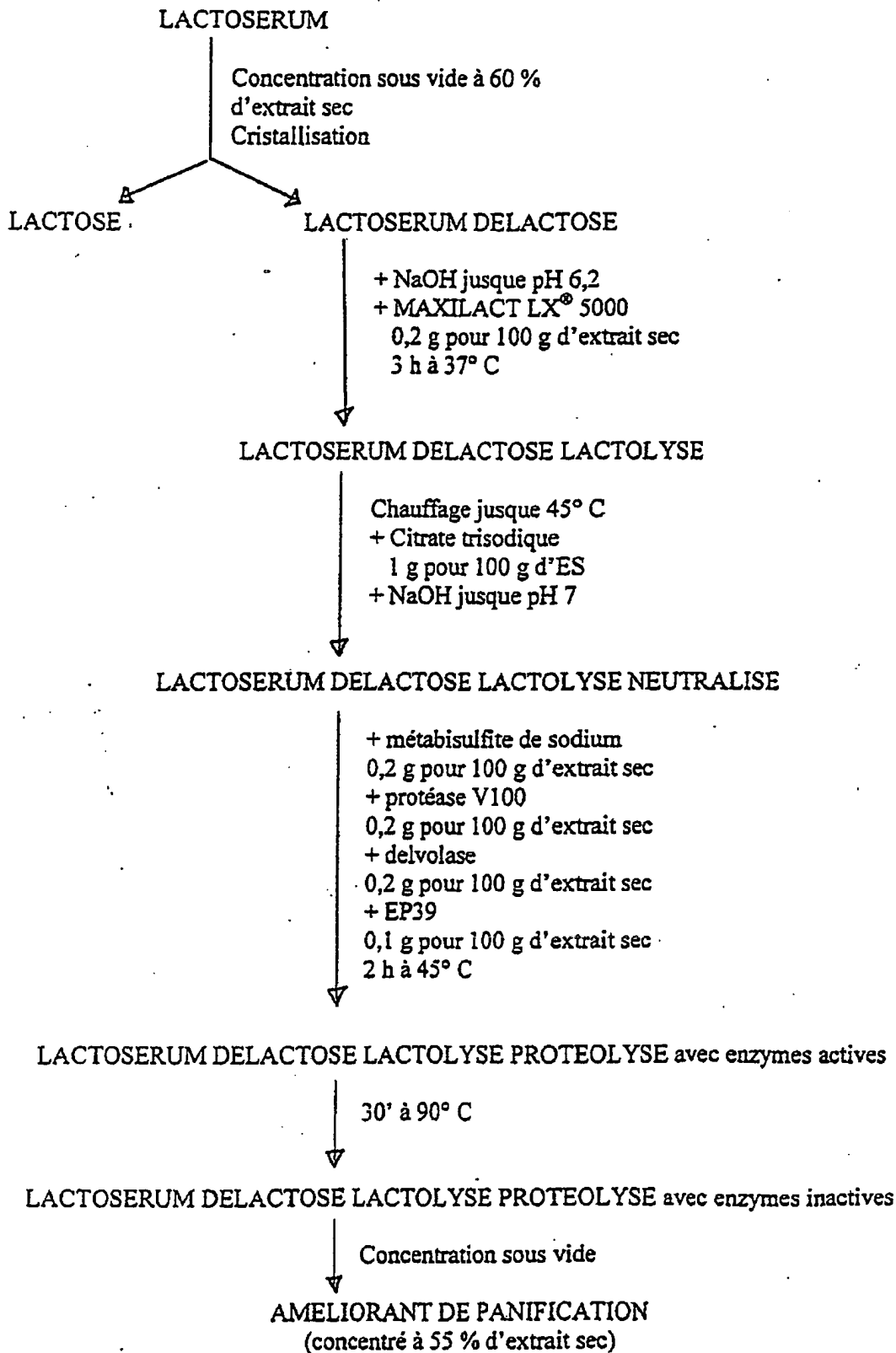
FIGURE 1*Transformation du lactosérum en améliorant de panification*

FIGURE 2*Transformation du lactosérum en améliorant de panification*

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☒ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☒ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☒ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☒ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☒ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.